



UNIVERSIDAD CÉSAR VALLEJO

FACULTAD DE CIENCIAS MÉDICAS

ESCUELA PROFESIONAL DE MEDICINA

EFEECTO ANTIMICROBIANO DEL EXTRACTO ETANOLICO DE
Juglans regia, COMPARADO CON VANCOMICINA SOBRE CEPAS DE
Staphylococcus epidermidis, ESTUDIO IN VITRO

TESIS PARA OBTENER EL TÍTULO PROFESIONAL DE MÉDICO CIRUJANO

AUTOR

PEREZ MENDOZA JUAN DIEGO

ASESOR


DR. MAURICIO GUTIERREZ CABALLERO

LÍNEA DE INVESTIGACIÓN

ENFERMEDADES INFECCIOSAS Y TRASMISIBLES

PIURA – PERÚ

2018

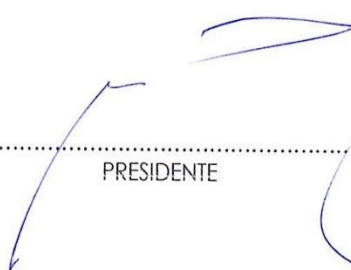
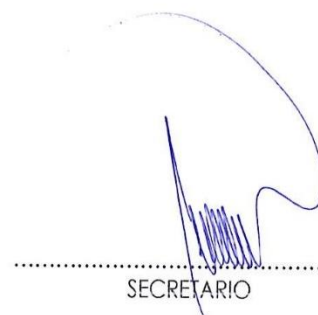

 UCV UNIVERSIDAD CÉSAR VALLEJO	ACTA DE APROBACIÓN DE LA TESIS	Código : F07-PP-PR-02.02 Versión : 07 Fecha : 31-03-2017 Página : 1 de 4
--	---------------------------------------	---

El Jurado encargado de evaluar la tesis presentada por don (ña) **PEREZ MENDOZA JUAN DIEGO** cuyo título es:

EFFECTO ANTIMICROBIANO DEL EXTRACTO ETANOLICO DE JUGLANS REGIA, COMPARADO CON VANCOMICINA SOBRE CEPAS DE STAPHYLOCOCCUS EPIDERMIDIS, ESTUDIO IN VITRO

Reunido en la fecha, escuchó la sustentación y la resolución de preguntas por el estudiante, otorgándole el calificativo de: 14 (número) Catorce (letras).

Piura 02 de 02 del 2019.

 PRESIDENTE	 SECRETARIO
 VOCAL	

Elaboró	Dirección de Investigación	Revisó	Representante de la Dirección / Vicerrectorado de Investigación y Calidad	Aprobó	Rectorado
---------	----------------------------	--------	--	--------	-----------

DEDICATORIA

A mis padres María Isabel Mendoza Ríos y
Juan Perez Morales que por su amor,
sacrificio y esfuerzo me formaron como
buena persona y saber enfrentar los retos
que se me han presentado.

A mis hermanos Jhon Jairo y Miguel Ángel Perez
Mendoza, por su apoyo y preocupación que
mostraron durante mi vida y sobre todo por mis
estudios profesionales.

A mi hija María Fe, mi mayor bendición,
que por su amor y cariño pude llegar a
cumplir las metas trazadas.

A mis abuelitos Rosaría, Martin y Andrea, que
mediante sus consejos supieron guiarme para
culminar mis estudios, a mi abuelito Jesús que
no lo pude conocer y por lo que mi padre cuenta
de él es que fue una gran persona.

A mis tíos, en especial a mi tío Benito,
Ana y mi primo Jorge; A los señores
Lucero y Segundo quienes mediante
sus consejos y enseñanzas lograron
que llegue a mi meta.

Juan Diego Pérez Mendoza

AGRADECIMIENTO

A Dios

Por su bendición y que cada día de mi vida, me ha fortalecido y me ha llenado de fe para poder seguir adelante ya que sin él no llegaría a culminar mis estudios.

A la Universidad César Vallejo

Institución que por mediante sus enseñanzas nos formó durante el camino y que hoy en día nos permite ser unos buenos profesionales en la vida.

A mis asistentes quienes compartieron sus destrezas en el entorno de la salud con el único objetivo de poder confrontar las diferentes situaciones que se nos puede presentar.

A mis Asesores

Gracias a la inteligencia adquirida durante su veteranía como profesional, me ayudaron arreglar las falencias de mi trabajo; al Dr. Mauricio Gutiérrez Caballero y al MG. Jaime Polo Gamboa, por su paciencia y sugerencias para ir enriqueciendo mi tesis y por ende tener un buen producto.

Juan Diego Pérez Mendoza


DECLARATORIA DE AUTENTICIDAD

Yo, Juan Diego Perez Mendoza con DNI N° 47521806, estudiante de la escuela Profesional de Medicina de la Universidad César Vallejo, filial Piura, presento el trabajo de investigación con el título de Efecto antimicrobiano del extracto etanólico de *Juglans regia*, comparado con Vancomicina sobre cepas de *Staphylococcus epidermidis*, estudio in vitro, con el fin de obtener el título profesional de Médico Cirujano.

Declaro que este trabajo de investigación es de mi autoría y asumo su originalidad, para el cual se han utilizado diversas fuentes que han sido citadas respetando las normas internacionales de referencias.

De identificar datos falsos e información sin citar a autores me someto a las sanciones de acuerdo a la normatividad vigente de la Universidad César Vallejo.

Piura, diciembre del 2018.



Perez Mendoza Juan Diego
DNI: 47521806

PRESENTACIÓN

Señores miembros del Jurado:

En cumplimiento del Reglamento de Grados y Títulos de la Universidad César Vallejo presento ante ustedes la Tesis titulada: “Efecto antimicrobiano del extracto etanólico de *Juglans regia*, comparado con Vancomicina sobre cepas de *Staphylococcus epidermidis*, estudio in vitro”, la misma que someto a vuestra consideración y espero que cumpla con los requisitos de aprobación para obtener el título Profesional de Médico Cirujano.

Tiene como objetivo general evaluar si el extracto etanólico de *Juglans regia*, tiene efecto antimicrobiano comparado con Vancomicina sobre cepas de *Staphylococcus epidermidis*, estudio in vitro.

Y como objetivos específicos, establecer el efecto antimicrobiano del extracto etanólico de *Juglans regia*, sobre cepas de *Staphylococcus epidermidis*, a diferentes diluciones; establecer el efecto antimicrobiano de la Vancomicina, sobre cepas de *Staphylococcus epidermidis*; Comparar el efecto antimicrobiano de los dos agentes; establecer la dilución mínima inhibitoria del extracto etanólico de *Juglans regia*.

Juan Diego Pérez Mendoza.

INDICE

Pagina del jurado.....	¡Error! Marcador no definido.
Dedicatoria	iii
Agradecimiento.....	iv
Declaratoria de autenticidad	v
Presentación.....	vii
Resumen	ix
Abstract	x
I. INTRODUCCION.....	1
1.1. Realidad Problemática.....	1
1.2. Antecedentes.....	2
1.2.1. Estudios relacionados al tema.....	2
1.3. Aspectos teóricos relacionados al tema.....	3
1.3.1. <i>Juglans Regia</i>	3
1.3.1.1. Descripción Botánica	4
1.3.1.2. Origen y distribución.....	4
1.3.1.3. Nombres vulgares	4
1.3.1.4. Sinónimo	5
1.3.1.5. Taxonomía	5
1.3.1.6. Partes aprovechables.....	5
1.3.1.7. Componentes químicos.....	6
1.3.1.8. Aplicaciones terapéuticas.....	6
1.3.1.9. <i>Juglans Regia</i> en la medicina.....	6
1.3.2. <i>Staphylococcus epidermidis</i>	6
1.3.2.1. Taxonomía	7
1.3.2.2. Género <i>Staphylococcus</i>	7
1.3.2.3. <i>Staphylococcus</i> de coagulase negativa (ECN)	7
1.3.2.4. Factores de virulencia	7
1.4. Formulación del problema	11
1.5. Justificación del estudio.....	12
1.6. Hipotesis.....	12
1.7. Objetivos	13
1.7.1. Objetivo general	14
1.7.2. Objetivo específico	14

II. METODOLOGIA	14
2.1. Tipo de investigacion	15
2.2. Diseño de investigacion	15
2.3. Variables y Operalización	15
2.3.1. Variable Independiente	15
2.3.2. Variable dependiente	15
2.3.3. Indicadores	16
2.4. Población y Muestra	16
2.4.1. Población	17
2.4.2. Muestra	17
2.5. Procedimiento, tecnicas e instrumentos de recoleccion de datos	19
2.5.1. Procedimiento y Técnica	19
2.5.2. Instrumento de recolección de datos	23
2.6. Metodos de analisis de datos	23
2.7. Aspectos eticos	23
III. ASPECTOS ADMINISTRATIVOS.....	23
3.1. Recursos, materiales y presupuesto	23
3.2. Financiamiento	26
IV. RESULTADOS	26
V. DISCUSIÓN.....	31
VI. CONCLUSIONES	32
VII. RECOMENDACIONES	33
VIII. REFERENCIA BIBLOGRAFICA	34

RESUMEN

El nogal (*Juglans regia*) es una planta conocida en diferentes partes del Perú y del mundo, por presentar propiedades medicinales y por su empleo para el tratamiento de numerosas enfermedades. El presente estudio tiene como objetivo determinar el efecto antimicrobiano del extracto etanólico de *Juglans regia*; donde primero se realizó el método de dilución en Agar Manitol Salado (MSA) y se determinó así la Concentración Inhibitoria Mínima del extracto. Se procedió a elaborar los discos de sensibilidad utilizando 5 µl de cada concentración al 25%, 50%, 75% y 100% del extracto etanólico (la preparación se realizó con el DMSO, donde 1 ml equivale a mil µl), los sensidiscos de Vancomicina y el agua destilada, para el control positivo o negativo, respectivamente. Estos discos se empleados para la prueba de sensibilidad bacteriana con el método de difusión de discos en Agar Manitol Salado (MSA). El tamizaje fitoquímico determinó la presencia de naftoquinonas, taninos, sesquiterpenos, flavonoides en el extracto etanólico de las hojas de *Juglans regia*. Se determinó que la concentración inhibitoria mínima (CIM) de *la Juglans regia* fue el 25%. En el método de difusión en agar, solo presentaron efecto inhibitorio las concentraciones al 25%, 50%, 75% y 100% con halos de inhibición de mayor diámetro iguales a 8 mm, 11 mm, 14 mm y 19 mm respectivamente. El control positivo de los sensidiscos de Vancomicina presentó halos de inhibición de 23 mm, mayor que el extracto etanólico *de Juglans regia* en todas las pruebas realizadas. Los metabolitos del extracto etanólico presenta importantes propiedades antimicrobianas, por lo que tienen efecto frente a las cepas de *Staphylococcus epidermidis*. El extracto etanólico de las hojas de *Juglans regia*, actuó como agente bacteriostático frente a *Staphylococcus epidermidis* y se puede considerar como un agente de mediana sensibilidad.

Palabras clave: Efecto antimicrobiano, extracto etanólico, *Juglans regia*, *Staphylococcus epidermidis* y *Vancomicina*.

ABSTRACT

Walnut (*Juglans regia*) is a plant known in different parts of Peru and the world, for its medicinal properties and its use for the treatment of numerous diseases. The objective of this study is to determine the antimicrobial effect of the ethanolic extract of *Juglans regia*; where the Salinity Mannitol Agar (MSA) dilution method was first performed and the Minimum Inhibitory Concentration of the extract was determined. The sensitivity discs were elaborated using 5 µl of each concentration at 25%, 50%, 75% and 100% of the ethanolic extract (the preparation was made with DMSO, where 1 ml is equivalent to one thousand µl), the sensi Vancomycin and distilled water, for positive or negative control, respectively. These discs are used for the bacterial sensitivity test with the disk diffusion method in Salted Mannitol Agar (MSA). The phytochemical screening determined the presence of naphthoquinones, tannins, sesquiterpenes, flavonoids in the ethanolic extract of the leaves of *Juglans regia*. It was determined that the minimum inhibitory concentration (CIM) of *Juglans regia* was 25%. In the agar diffusion method, only 25%, 50%, 75% and 100% concentrations with inhibition halos of greater diameter equal to 8 mm, 11 mm, 14 mm and 19 mm respectively showed an inhibitory effect. The positive control of Vancomycin's sensidiscs showed 23 mm inhibition halos, greater than the ethanolic extract of *Juglans regia* in all tests performed. The metabolites of the ethanolic extract have important antimicrobial properties, so they have an effect against strains of *Staphylococcus epidermidis*. The ethanolic extract of the leaves of *Juglans regia*, acted as a bacteriostatic agent against *Staphylococcus epidermidis* and can be considered as an agent of medium sensitivity.

Key words: Antimicrobial effect, ethanolic extract, *Juglans regia*, *Staphylococcus epidermidis* and Vancomycin.

I. INTRODUCCION

1.1. REALIDAD PROBLEMÁTICA

Las enfermedades infecciosas ocasionadas por microorganismos constituyen un gran problema para la salud mundial, por lo que diversas instituciones de la salud han establecido diferentes esquemas de tratamientos para combatirlas y lograr su erradicación. En los Estados Unidos el *Staphylococcus epidermidis* es la causa más frecuente de infecciones adquiridas en su mayoría, donde la infección ocasionada por este agente, se encuentra relacionadas por el uso de dispositivos médicos como el catéter venoso central, articulaciones protésicas, válvulas y dispositivos de asistencia cardiaca.¹

Los esquemas de tratamiento para las enfermedades infecciosas se hacen cada vez más difíciles, en especial para las infecciones que son causadas por un patógeno oportunista como el *Staphylococcus epidermidis*, desarrollando así una resistencia durante el transcurso del tratamiento y ocasionando a su vez un efecto mayor que es incrementar la tasa de mortalidad en los pacientes infectados, debido a que no responden al tratamiento adecuado, lo cual ameritan otros medicamentos para combatirlas. En el Perú se han reportado casos de resistencia antimicrobiana al *Staphylococcus* por lo que, unido al poco desarrollo de nuevos antibióticos, hace que cada vez se disponga menos opciones terapéuticas para el tratamiento de las enfermedades infecciosas.^{1, 2}

En el Perú hay una gran biodiversidad de plantas, algunas de estas con propiedades medicinales que se fueron transmitiendo durante generaciones, por lo cual las personas recurren a estos medios naturales para sanar su enfermedad y mejorar su estado de salud, las plantas medicinales son la principal herramienta terapéutica en la medicina tradicional, donde se han experimentado con diferentes drogas vegetales en diversas partes del mundo para desarrollar nuevos medicamentos, debido a que no presentan tantos efectos

adversos y por lo cual ha motivado a la elaboración de nuevas alternativas terapéuticas.^{2,3}

1.2. ANTECEDENTES

1.2.1. Estudios relacionados al tema

Farooqui A. et al⁴ (Francia, 2015), determinaron la actividad antimicrobiana de *Juglans regia* contra 350 cepas bacterianas entre ellas Gram positivo y Gramnegativo, perteneciente a diez especies diferentes. Se obtuvo el extracto mediante la dilución acuosa y metanólica; utilizaron la difusión de pocillos de agar como método de antimicrobiano, en la cual su concentración mínima inhibitoria (CIM) se determinó por dilución en agar y micro brotes donde la concentración del extracto oscila entre 5000-50 µg/ml. El extracto obtuvo un potente efecto inhibidor sobre las cepas de *Staphylococcus aureus* meticilina resistente (MRSA), con una CIM de 0,31 mg/ml, presentando un halo de inhibición de más de 20 mm.

Zkavi F. et al⁵ (Irán, 2013), determinaron el efecto antimicrobiano de la corteza de *Juglans regia* sobre el *Staphylococcus aureus* y otras bacterias. Los extractos acuosos y etanólicos fueron diluidos en agua para obtener diferentes concentraciones a 1000, 500, 250, 125, y 62,5 mg/ml. Procediendo a los ensayos en los discos de difusión para evaluar su efecto antimicrobiano. La concentración mínima inhibitoria (MIC) del *Staphylococcus aureus* fue de 2 mg/ml en etanólico y 125 mg/ml en acuoso. La concentración de 1000 mg/ml de extracto dieron como resultado un halo inhibitorio de 12 mm para el extracto acuoso y 7 mm para el extracto etanólico.

Kale A. et al⁶ (India, 2011), determinaron la actividad antimicrobiana de la corteza de *Juglans regia* sobre

Staphylococcus aureus, *Pseudomonas* y *Escherichia coli*. Prepararon un extracto etanólico, que luego fue sometido por el método de difusión en agar. Elaboraron cultivos de microorganismos para las bacterias en placas Petri, donde se llenaron con 0.5µ/L de extracto de la planta y se obtuvieron zonas de inhibición de 10 mm de diámetro para *Staphylococcus aureus*, 12 mm de diámetro para *Pseudomonas* y 9 mm de diámetro para *Escherichia coli*.

Noumi E. et al⁷ (Túnez, 2011), determinaron la actividad antibacteriana utilizando el aceite esencial del extracto de *Juglans regia*, donde se produjeron ensayos con los discos de difusión para evaluar su efecto antimicrobiano. Fueron tres extractos diferentes de *Juglans regia* las que se tomaron en cuenta, cada una con dosis de 10 µl; la primera fue el extracto de metanol que presento una zona de inhibición 12±0 (mm ± SD) de diámetro, la segunda fue el extracto de acetato de etilo con una zona de inhibición 20.33 ± 0.57 de diámetro (mm ± SD) y por último fue el extracto de acetona diluida 10.66 ± 0.57 de diámetro (mm ± SD).

Pereira J. et al⁸ (España, 2007), determinaron la actividad antimicrobiana de las Hojas de nuez (*Juglans regia* L.), mediante los compuestos fenólicos. Se produjeron diferentes métodos de difusión con distintas cepas bacterianas, de las cuales la más usada fue el *S. aureus* y presento un halo de inhibición de 12,5 ± 1,29 de diámetro (mm ± SD) con una concentración de 10 mg/ml del extracto.

1.3. ASPECTOS TEÓRICOS RELACIONADOS AL TEMA

1.3.1. *Juglans Regia*

1.3.1.1. Descripción Botánica

La *Juglans Regia* (nogal) es un árbol de 30 metros de alto con un diámetro de 2 metros aproximadamente, presenta una larga vida de 100 a 200 años e incluso pueden llegar a vivir hasta los 1000 años; crece a 800 m.s.n.m en suelos muy fértiles, calcáreos, profundos y en zonas muy abrigadas pero soleadas.¹⁷

Presenta una corteza lisa y grisácea con hojas grandes que miden entre 20 - 45 cm de largo, en donde las hojas más jóvenes son algo pegajosas y aromáticas; tiene flores monoicas y sus frutos tienen la forma de una tuerca redondeada de 4 cm aproximadamente, con un peso de hasta 18g.¹⁷

La familia *Juglandaceae* son caducifolios, con flores monoicas, apétalas, unisexuales, con hojas innatas espaciadas y compuestas, con un fruto en nuez y son también árboles muy leñosos. La familia *Juglandaceae* abarca siete géneros de los cuales lo conforman aproximadamente unas 70 especies.¹⁷

1.3.1.2. Origen y distribución

El género *Juglans* se comprende de 15 especies nativas en el Sureste de Asia, Europa, América del Norte y del Sur. En el Perú crece en los departamentos del Ancash, Cusco, Ayacucho, La Libertad, Junín y Cajamarca, a una cierta altitud, el cultivo de nogal es factible en las zonas de la serranía del Perú, que se encuentre entre los 2400 a 3000 msnm.¹⁷

1.3.1.3. Nombres vulgares

- Nogal ceniciento

- Nogal común
- Nogal de cuba
- Nogal de la américa
- Nogal de la india
- Nogal del país
- Nogal negro
- Nogal peludo

1.3.1.4. Sinónimo

- *Juglans regia* var. *sinensis*
- *Juglans duclouxiana*
- *Juglans kamaonia*
- *Juglans fallax*
- *Juglans sinensis*
- *Juglans orientis*
- *Juglans regia*
- *Juglans nigra*
- *Juglans cinerea*
- *Juglans ailanthifolia* Carrière,

1.3.1.5. Taxonomía

- Familia: *Juglandaceae*
- Género: *Juglans*
- Reino: *Plantae*.
- Orden: *Juglandales*
- Clase: *Dicotiledónea*
- Origen: *Exótica*
- División: *Espermatofita*
- Subdivisión: *Angiosperma*

1.3.1.6. Partes aprovechables

Presenta un Fruto muy carnoso y con una semilla de envoltorio leñoso, en su interior se encuentra dividido incompletamente en más de dos. Los frutos se presentan en grupos de 1 - 4 sobre un corto pedúnculo, que en su interior contiene la nuez comestible.

Su fruto cuenta con amplias bondades nutricionales, como por ejemplo el aporte de vitaminas del grupo B, también se le da utilidades en gastronomía. De este árbol se aprovecha también su afamada y valiosa madera.

1.3.1.7. Componentes químicos

Polifenoles, alcaloides (yuglanina), taninos (taninos gálicos, catéquicos y elágicos), glucósido (hidroyuglona), vitaminas B, C, E y cobre.

1.3.1.8. Aplicaciones terapéuticas

Es utilizado como un astringente, antidiarreico o antiséptico. Las hojas adquieren propiedades sudoríficas por lo que se utilizan en enfermedades venéreas y escrofulosas.¹⁷

1.3.1.9. Juglans Regia en la medicina

Es utilizado para problemas estomacales, afecciones de la piel, anemia, mala circulación, desintoxica la sangre, llagas bucales, hepáticas, debilitamiento físico generalizado, inflamaciones oculares, picaduras de insectos, parásitos internos, raquitismo.

1.3.2. *Staphylococcus epidermidis*

1.3.2.1. Taxonomía

El *Staphylococcus epidermidis* es un coco Gram positivo de coagulasa negativa perteneciente a la familia de los *Micrococcaceae*, del género *Staphylococcus* de las cuales también pertenecen el *S. aureus* y *S. saprophyticus*.

1.3.2.2. Género *Staphylococcus*

Los *Staphylococcus* son un grupo heterogéneo de bacterias Gram positivas que durante su investigación se observó un ordenamiento microscópico con forma de un racimo de uva; presentando un diámetro de 0,5 a 2 µm aproximadamente.

CLASIFICACION

Se presenta en dos subgrupos, que se diferencian por la producción de una enzima, lo cual a un grupo se les denomina:

- ***Staphylococcus* de coagulasa positiva (ECP)**, debido a que produce coagulasa como es el caso del *Estafilococo aureus*
- ***Staphylococcus* de coagulase negativa (ECN)**, debido a que no la produce, como es el *Staphylococcus epidermidis* y es la que más predomina en la piel a diferencia de otros agentes.^{9, 10, 11}

1.3.2.3. *Staphylococcus* de coagulase negativa (ECN)

Es un coco Gram positivo de coagulase negativa perteneciente a la familia de los *Micrococcaceae*, del género *Staphylococcus* de las cuales también pertenecen el *S. aureus* y *S. saprophyticus*.^{12, 13}

1.3.2.4. Factores de virulencia

Los ECN sintetizan enzimas term nucleasas, ADNasas, lipasas, hemolisinas y exo-enzimas que tienen función de degradar los tejidos y que cooperan a la perseverancia de la infección; por lo que el *S. epidermidis* no produce ninguna de las toxinas StaphAg. Su habita natural es la piel, narinas anteriores, conductos auditivos, aparato respiratorio y gastrointestinal, siendo así la causante más frecuente de infecciones oportunista asociados a catéteres endovasculares y prótesis de rodilla, que luego de ser colonizado durante una bacteriemia subsiguiente comenzaría a producirse biopelículas.^{12, 13}

Estas biopelículas son el principal factor de virulencia y tiene la función de proporcionar adhesión adicional, englobando en su totalidad la población bacteriana, lo cual establece una barrera en contra de los fármacos antimicrobianos y los mecanismos de defensa del hospedador. El *S. epidermidis* crea biopelículas que se configuran en cuatro fases que son la fijación, la acumulación, la maduración y la dispersión, cada una genera interacciones entre las proteínas y las moléculas de sustancia polimérica, lo cual se manifiestan y se normaliza al obedecer las propiedades nutricionales del entorno en el que se está creando biopelículas y por su consistencia bacteriana.^{13, 14, 15}

La primera fase de fijación: inicia la configuración del biofilm y acontece dos periodos en una superficie. La primera etapa que es la adsorción, se presenta interacciones inespecíficas y reversibles entre las bacterias y la superficie. La segunda etapa que es la aceptación de las bacterias en la superficie, lo cual es inalterable y específico. Un claro ejemplo es cuando se implanta una prótesis de rodilla, se recubren inmediatamente con

proteínas plasmáticas, lo cual son reconocidos por componentes de la pared bacteriana y forman uniones covalentes. La MSCRAMMs se conoce como componentes microbianos de superficie que reconocen moléculas de matriz adhesiva. El *S. epidermidis* adquiere diferentes MSCRAMMs que se relacionan con proteínas del molde extracelular, de las cuales las más significativas son Embp, GehD, AtlE, SdrG/Fbe y Aap, se junta al colágena, fibrinógeno, fibronectina y vitronectina.^{14, 15, 16}

La segunda fase de acumulación: es la principal durante el desarrollo de biopelículas, por lo cual las bacterias se adhirieron a la superficie de los materiales para propagarse y crear diminutos anejos bacterianos. La contigüidad entre los anejos origina vestigios químicos pertenecientes a metabolitos secundarios, sirviendo como activadores del sistema quorum sensing, lo cual generan señales químicas para utilizar a los gérmenes como transmisores, consiguiendo alterar y regular la señal genómica de los gérmenes.

Mientras se da la acumulación, el quorum sensing estimula la manifestación de los genes que se recopilan para las moléculas que generan la matriz extracelular de la biopelícula. Una de las moléculas es el poli-N-acetilglucosamina (PNAG), sirve para que los gérmenes puedan adherirse y agregarse entre ellos; para que exista la biosíntesis del PNAG, teniendo en cuenta el operón icaADBC. Existe una limitado agrupación productora de biopelícula sin operón icaADBC. El *S. epidermidis* llevan a cabo la formación de la misma por un mecanismo alternativo, el cual es conocido como PNAG-independiente, este mecanismo alternativo emplea moléculas de carácter proteica durante el depósito bacteriana. Hasta el momento son 35

las primordiales proteínas que se han identificado como intermediario de PNAG-independiente, el (Aap) es una proteína asociada a la acumulación, el (Embp) se une a la matriz extracelular y el (Bap) se asocia a los biofilm.^{15,16}

En la tercera fase de maduración: la biopelículas adquiere una estructura tridimensional en forma de torre y se observan formaciones de canales de agua que sirven para absorber nutrientes y oxígeno del medio externo, también sirven para desalojar productos metabólicos que se acumulan en su interior, de los cuales se generan dos por las células bacterianas. Ocurre otro fenómeno también que es la alteración del metabolismo bacteriano, el cual se inactiva.^{15, 16}

La cuarta fase de la dispersión: es una de las primordiales fuentes infecciosas generadas por una prótesis articular que origina la degeneración de la matriz extracelular lo cual es un desarrollo complicado que se origina en dos simples avances; primero los gérmenes se estimulan metabólicamente y después se presenta la manifestación de genes que cifran las moléculas para que pueden atenuar la matriz extracelular.

La manifestación es ordenada por el gen accesorio regulador (*agr*), donde inducirá la revelación de proteasas, nucleasas y moléculas con rasgos surfactantes que solubilizan la materia de la matriz extracelular, logrando la separación de los gérmenes.^{15, 16}

El desprendimiento autoriza a los gérmenes a migrar e iniciar nuevas biopelículas, produciendo así ciertas enfermedades como endocarditis, infección de heridas quirúrgicas y del tracto urinario, infecciones del sistema nervioso central, oftalmológicas y de tejidos blandos.

Provocando así una bacteriemia y generando a su vez procesos supurativos en cualquier tejido, lo cual se presentan desde muy leves hasta una gravedad muy avanzada que podría ocasionar la muerte sino se es tratado a tiempo. Los pacientes inmunodeprimidos o neutropenicos, así como los neonatos prematuros, se han visto especialmente más afectados.^{13, 14, 15}

1.4. FORMULACIÓN DEL PROBLEMA

¿El extracto etanólico de *Juglans regia*, tiene efecto antimicrobiano comparado con Vancomicina sobre cepas de *Staphylococcus epidermidis*, estudio in vitro?

1.5. JUSTIFICACIÓN DEL ESTUDIO

En el presente estudio tiene por finalidad aportar información que permita mejorar el conocimiento del tratamiento tradicional, debido a que nos enfrentamos a una gran variedad de enfermedades infecciosas ocasionadas en nuestro medio, por lo que el empleo de plantas medicinales con actividad antimicrobiana puede disminuir su efecto y así evitar complicaciones que los llevarían a la mortalidad. La medicina popular, folclórica o ancestral como se conoce en realidad, nos presenta diversas variedades de plantas medicinales con una gran actividad empírica y se podría usar como tratamiento alternativo, debido a que se han hecho algunos estudios científicos y se obtuvieron buenos resultados por su eficacia contra ciertos agentes bacterianos.

Son seguros y tolerables a ciertas dosis administradas y presentan menos efectos adversos que algunos medicamentos y aparte que son de muy bajo costo. Las plantas medicinales representan para la gran parte de sus pobladores, la principal herramienta terapéutica de uso tradicional que fueron pasando de generación en generación. En el siguiente estudio experimental, se busca identificar la acción antimicrobiana del *Juglans regia*, tratando de llamar la atención sobre sus propiedades medicinales debido a sus aceites esenciales y alentar su empleo alternativo o complementario en los diversos padecimientos infecciosos. Los resultados de este trabajo serán de mucha importancia para todo el personal de salud, sobre todo para los médicos, lo cual deben interesarse más por el desarrollo de investigaciones experimentales debido que son el futuro del tratamiento convencional y que podrían prevenir ciertas complicaciones.

1.6. HIPOTESIS

H₁: El extracto de *Juglans regia*, tiene efecto antimicrobiano comparado con Vancomicina sobre cepas de *Staphylococcus epidermidis*, estudio in vitro.

H₀: El extracto de *Juglans regia*, No tiene efecto antimicrobiano comparado con Vancomicina sobre cepas de *Staphylococcus epidermidis*, estudio in vitro.

1.7. OBJETIVOS

1.7.1. OBJETIVO GENERAL

Evaluar si el extracto etanólico de *Juglans regia*, tiene efecto antimicrobiano comparado con Vancomicina sobre cepas de *Staphylococcus epidermidis*, estudio in vitro.

1.7.2. OBJETIVO ESPECIFICO

- Establecer el efecto antimicrobiano del extracto etanólico de *Juglans regia*, sobre cepas de *Staphylococcus epidermidis*, a diferentes diluciones.
- Establecer el efecto antimicrobiano de la Vancomicina, sobre cepas de *Staphylococcus epidermidis*.
- Comparar el efecto antimicrobiano de los dos agentes.
- Establecer la dilución mínima inhibitoria del extracto etanólico de *Juglans regia*.

II. METODOLOGIA

2.1. TIPO DE INVESTIGACION

Básico

2.2. DISEÑO DE INVESTIGACION

Experimental con repeticiones múltiples

RG1	X1	O1
RG2	X2	O2
RG3	X3	O3
RG4	X4	O4
RG5	X5	O5
RG6	---	O6

Dónde:

RG_{1, 2, 3, 4, 5, 6}: Grupos de estudio (Cultivos de *Staphylococcus epidermidis*)

X_{1, 2, 3, 4}: Dilución del extracto etanólico de las hojas de *Juglans regia* (nogal), Al 25%, 50%, 75% y 100%.

X5: Tratamiento con Gold Estándar (Vancomicina).

X6: Control negativo: Agua destilada.

O_{1, 2, 3, 4, 5, 6}: Lectura de los halos inhibición en mm

2.3. VARIABLES Y OPERALIZACIÓN

2.3.1. Variable Independiente: tratamiento antibacteriano

- **No farmacológico**

Extracto etanólico de *Juglans regia*.

- **Farmacológico**

Vancomicina.

2.3.2. Variable dependiente:

Efecto antimicrobiano sobre *Staphylococcus epidermidis*.

- Si efecto antibacteriano: aumento del halo de inhibición
- No efecto antibacteriano: disminución de halo de inhibición.

2.3.3. Indicadores

VARIABLE	DEFINICION CONCEPTUAL	DEFINICIÓN OPERACIONAL	INDICADOR ES	ESCALA DE MEDICIÓN
V. I: Tratamiento antibacteriano	<p>Para el tratamiento antimicrobiano del <i>Staphylococcus epidermidis</i>. Se utiliza:</p> <p>Tratamiento no farmacológico del extracto etanólico de <i>Juglans Regia</i>.¹⁷</p> <p>Tratamiento farmacológico con Vancomicina.¹⁸</p>	<p>La población fue dividida en los siguientes grupos:</p> <p>a) <i>Juglans regia</i> al 100% b) <i>Juglans regia</i> al 75% c) <i>Juglans regia</i> al 50% d) <i>Juglans regia</i> al 25% e) Vancomicina f) Agua destilada</p>	<p>RG1</p> <p>RG2</p> <p>RG3</p> <p>RG4</p> <p>RG5</p> <p>RG6</p>	Cuantitativa nominal
V. D: Efecto antimicrobiano sobre <i>Staphylococcus epidermidis</i>	Es la disminución del crecimiento bacteriano del <i>Staphylococcus epidermidis</i> que se manifiesta con la presencia del halo inhibitorio en las placas Petri. ¹⁹	<p>Se midió mediante el halo de inhibición con el método de difusión en disco con agente antibacteriano y se considerara los estándares M100S26 del CLSI.²²</p> <p>a) Halo de inhibición mayor de 17 mm. b) Halo de inhibición menor de 16 mm.</p>	<p>Si efecto antimicrobiano</p> <p>No efecto antimicrobiano</p>	Cuantitativa nominal

2.4. POBLACIÓN Y MUESTRA

2.4.1. Población

Conformada por todas las cepas de *Staphylococcus epidermidis* que fueron cultivadas en el laboratorio de microbiología de la Universidad Cesar Vallejo de - Trujillo.

2.4.2. Muestra

Unidad de análisis

Cada cepa de *Staphylococcus epidermidis* cultivada en el laboratorio de microbiología de la Universidad Cesar Vallejo, cumplió los criterios de selección.

Unidad muestral

Cada placa de cultivo de *Staphylococcus epidermidis*.

Tamaño de muestra

Se emplea la fórmula estadística para hallar el número de repeticiones necesarias que validan la investigación. **(Ver Anexo 01).**

Se aplicó la siguiente fórmula:

$$n = \frac{(Z_{\alpha/2} + Z_{\beta})^2 2\sigma^2}{(\bar{X}_1 - \bar{X}_2)^2}$$

Dónde:

- $Z_{\alpha/2}$: 1,96
- Z_{β} : 0,84
- σ : 1,29 mm: referencia ⁸
- X_1 : 15,3 mm: referencia ^{4,5,6,7,8}
- X_2 : 17 mm: referencia ¹⁹

$n = 10$ repeticiones por cada dilución
Total 66

Muestreo: en el estudio se empleará el muestreo Censal

2.4.2.1. CRITERIOS DE SELECCIÓN

Criterios de inclusión

- Cepas de *Staphylococcus epidermidis*.
- Cultivos de *Staphylococcus epidermidis*.

Criterios de exclusión

- Cepas de *Staphylococcus epidermidis* contaminadas
- Cepas de *Staphylococcus epidermidis* que no pudieron ser reconstituidos en medio de cultivo.
- Cultivos de *Staphylococcus epidermidis* donde no se evidencia crecimiento.

2.5. PROCEDIMIENTO, TECNICAS E INSTRUMENTOS DE RECOLECCION DE DATOS

Se solicitó permiso al Jefe del Laboratorio de Investigación de la Universidad Cesar Vallejo – Trujillo para el desarrollo de la investigación.

2.5.1. Procedimiento y Técnica

Para la obtención del extracto etanólico se optó por el método de maceración alcohólica con etanol y mediante la observación directa; se observará el aumento bacteriano de los cultivos de las cepas de *Staphylococcus epidermidis*, en las placas Petri.

LA RECOLECCIÓN Y SECADO DE LAS HOJAS DE *Juglans regia*:

Se realizó el pedido 10 kg de hojas frescas de nogal a un comerciante de plantas medicinales, quienes los comercializan en diferentes partes del Perú. Luego de recibir las hojas frescas se procedió a desatar los ramos de la planta en las que venía empacado para poder desojarlas y descartar las hojas que se encuentren en mal estado, una vez separadas las hojas buenas se comenzara a limpiarlas adecuadamente con agua estéril, ya estando limpias se pondrán en bandejas armadas de papel Kraft para poder colocarlos en un horno microondas de laboratorio a 40 °C para su respectiva deshidratación durante cuatro días.

Pasado los cuatro días se procedió retirar las hojas deshidratada del horno para colocarlas en una bolsa grande hecha de papel Kraft, luego de juntar la hojas se empezó a triturarlas con las manos previamente lavadas, hasta que quede en pequeños trozos, que luego será recolectada en una bolsa hermética para su conservación.

ELABORACIÓN DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE *Juglans regia*.

Mediante el procedimiento de maceración alcohólica con etanol, se obtuvo el extracto etanólico de las hojas de *Juglans regia* por lo que se procederá a pesar en una balanza electrónica 50 gr de hojas trituradas de nogal para que luego ser colocado en un Matraz Erlenmeyer de 500 ml, después se deberá medir 250 ml de Alcohol puro al 96% en una Probeta Graduada de 500 ml para luego vaciarlo en el Matraz que contiene las hojas trituradas y a continuación se cubrió la parte superior con papel de aluminio.

Luego fue colocado en un horno microondas a una temperatura de 37 °C durante 7 días. Se agitó 2 a 3 veces por día hasta que se cumplió el plazo correspondiente. Pasado los 7 días se procedió a retirar los Matraces del horno para luego ser colados mediante gasas estériles en un embudo con un vaso de precipitación, una vez tenido el primer colado se volvió a colar de nuevo con un papel filtro esterilizado. Ya siendo colado por segunda vez y obtenido el extracto, se puso de nuevo en el horno microondas a una temperatura de 37 °C durante 24 horas para que se evapore y obtener el puro extracto.

PREPARACIÓN DE LA SOLUCIÓN DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE *Juglans regia*.

Se procedió a preparar soluciones en diferentes concentraciones, utilizando el DMSO (dimetilsulfóxido), para tomar cierta cantidad en µl y poder combinarlo con el extracto. Una vez que se realizó las combinaciones respectivas, se procedió a colocarlo en 3 tubos de ensayo, donde se le marcara con diferentes porcentajes al 25%, 50%, 75% y el 100% que es el extracto puro.

Cuadro N° 1: Soluciones del extracto etanólico de *Juglans regia* en diferentes concentraciones.

Extracto	DMSO	Concentración	Tubos de ensayo
250 µl	750 µl	25%	1
500 µl	500 µl	50%	2
750 µl	250 µl	75%	3

CEPA BACTERIANA EMPLEADA PARA EL ESTUDIO

Se trabajó con la cepa de *Staphylococcus epidermidis* (American Type Culture Collection), para la reactivación de la cepa bacteriana se utilizó Agar Manitol Salado (MSA). Se incubó a 37 °C por un tiempo de 24 horas para su crecimiento y poder obtener colonias jóvenes de la cepa en estudio.

ESTANDARIZACIÓN DE LA CEPA PATRÓN *Staphylococcus epidermidis*:

Se utilizó la escala de Mc Farland 0.5, para lo cual se preparó una suspensión de *Staphylococcus epidermidis* en 2 ml de suero fisiológico, con una turbidez equivalente al 0,5 de la escala de Mc Farland.

DETERMINACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN INHIBITORIA MÍNIMA (CMI).

Se procedió a separar una cierta cantidad de discos se sensibilidad en cuatro Placas Petri en donde serán rotuladas con el porcentaje de cada concentración:

1. Se procedió a sacar con una Micropipeta 5 µl de acuerdo a la concentración (25%, 50%, 75% y 100%) de cada tubo de ensayo.
2. Luego se impregnó de acuerdo al porcentaje, en cada disco que este dentro de las placas Petri rotuladas.
3. Este procedimiento se realizó varias veces hasta terminar de aplicar a todos los discos con su respectivo porcentaje.

PRUEBA PARA LA DETERMINACIÓN DE LA SENSIBILIDAD ANTIBACTERIANA.

Se usó la técnica de Kirby-Bauer, lo cual se realizaron 20 repeticiones de cada concentración del extracto etanólico y los sensidiscos de Vancomicina para realizar las pruebas correspondientes y contar con validez estadística. Bajo las condiciones estériles y 0.1 ml del inóculo bacteriano, se procederá a dispersar con un hisopo estéril en toda la superficie del agar que contiene cada placa Petri, en forma de zigzag. Ya terminado el procedimiento se quemará el hisopo en el mechero para evitar contaminación alguna.

Mediante pinzas estériles se procedió a colocar en cada placa Petri, un disco de cada concentración impregnada al 25%, 50%, 75% y 100%, donde también se colocaron los sensidiscos de Vancomicina. Una vez terminado el procedimiento, se procederán a incubar a 37 °C todas las placas durante un periodo de 24 Horas. Una vez terminado el plazo, se procedió a la lectura de los halos de inhibición, con la ayuda del calibrador.

2.5.2. Instrumento de recolección de datos

Los datos obtenidos fueron recolectados en una “Ficha de recolección de datos obtenidos del extracto etanólico de la *Juglans regia*”. Donde se registró el número de repeticiones, los halos de inhibición de los aceites a diferentes diluciones, de Vancomicina y agua destilada.²²

2.6. METODOS DE ANALISIS DE DATOS

La información transcrita en la ficha de recolección de datos fue procesada en la base de datos en el programa SPSS versión 21.0 para Windows. Se va a emplear la prueba estadística de Análisis de Varianza (ANOVA), permitiendo evaluar el efecto de la variable independiente (extracto etanólico de la *Juglans regia*: concentraciones) sobre la variable dependiente (efecto antimicrobiano). La Turkey sirvió para homogenizar los datos y la estadística inferencial para la comprobación de la hipótesis y el cumplimiento de los objetivos.²³

El análisis de información se realizó en el Gráfico de Cajas en Microsoft Excel para el halo de inhibición.²⁴

2.7. ASPECTOS ETICOS

El presente estudio contó con la autorización de la Facultad de Ciencias Médicas, escuela de Medicina de la Universidad Cesar Vallejo, en concordancia con las recomendaciones establecidas en el Manual de Bioseguridad en el Laboratorio respaldada por la OMS.²⁵

III. ASPECTOS ADMINISTRATIVOS

3.1. Recursos, materiales y presupuesto

Recursos Humanos

- Investigador
- Asesores
- Estadístico

Material biológico y farmacológico

- Hojas de la especie *Juglans regia* (familia *Juglandaceae*), conocida con el nombre de nogal.
- Cepa de *Staphylococcus epidermidis*
- Sensidiscos de Vancomicina (VA) de 30 mcg.

Material de Escritorio

- Un millar de papel bond.
- Tres lapiceros.
- Un corrector.
- Engrapador y archivador.
- Un millar de papel bond.
- Dos cartuchos de impresora.

Material de Laboratorio:

- Matraces de 500 ml (para macerar).
- Plumón marcador de vidrio
- Puntas amarillas estériles.
- Mechero de alcohol
- guantes de laboratorio estéril
- Alcohol etílico 70°.
- Asas bacteriológica.
- Embudo de vidrio.
- Hisopo estéril.
- Agua destilada.
- Tubos de ensayo
- Papel aluminio.
- Micropipetas.

- Papel Kraft.
- Placas de Petri.
- Papel de filtro.
- Papel toalla.
- Probeta.
- Gradillas.
- Espátulas.
- Fósforos.
- Vernier.
- Pinza.

Equipos

- Balanza electrónica digital
- Estufa.

Servicios:

- Pasajes.
- Fotocopias.
- Impresiones

Consolidados:

- Bienes
- Servicios

Presupuesto:

Cuadro N°2: Presupuesto del trabajo realizado.

PARTIDAS	PARCIAL	TOTAL
----------	---------	-------

Materiales de laboratorio:		
- Hojas de la planta.	50.00	
- <i>Staphylococcus epidermidis</i>	2000.00	
- Placas Petri	350.00	
- Agar Manitol Salado (MSA)	200.00	
- Mechero	30.00	
- Guantes	10.00	2990
- Papel Kraft	20.00	
- Alcohol etílico 70º: 2 L	30.00	
- Otros.	300.00	
Material de escritorio:		
- Un millar de bond	45.00	
- Tres lapiceros	10.00	
- Un corrector	3.00	
- Engrapadora	17.00	
- Archivador	40.00	115
Material de Impresión:		
- Un millar de papel bond.	45.00	
- Tinta líquida para impresora.	60.00	105
Servicios		
- Pasajes	100.00	
- Fotocopias	20.00	
- Internet.	20.00	140
Consolidados:		
- Bienes	0	
- Servicios		0
TOTAL	3350	3350

3.2. FINANCIAMIENTO

El presente experimento fue financiado por el autor.

IV. RESULTADOS

4.1. Análisis estadístico

Cuadro N°3: Efecto antibacteriano del extracto etanólico de *Juglans regia* frente a *Staphylococcus epidermidis*.

CONTENID O DEL DISCO		<i>Juglans regia</i>				Vancomicin a	Agua destilad a
		25%	50%	75%	100%		
DIAMETRO DE LOS HALOS DE INHIBICION (mm)	1	6	8	10	14	20	0
	2	5	7	10	13	21	0
	3	6	7	10	16	24	0
	4	6	8	10	15	23	0
	5	6	6	8	16	21	0
	6	6	7	9	16	17	0
	7	0	7	10	17	18	0
	8	6	6	11	15	20	0
	9	6	8	11	15	23	0
	10	6	6	12	14	20	0
	11	6	6	10	16	20	0
	12	6	8	12	16	21	0
	13	7	8	14	15	24	0
	14	0	6	11	14	23	0
	15	6	8	11	19	21	0
	16	6	11	12	18	17	0
	17	8	8	11	15	18	0
	18	7	9	11	17	20	0
	19	7	8	12	16	23	0
	20	0	6	10	18	20	0

Para estimar el grado de asociación entre variables, se utilizó el análisis de varianza – ANOVA.

H₁: El extracto de *Juglans regia*, tiene efecto antimicrobiano comparado con Vancomicina sobre cepas de *Staphylococcus epidermidis*, estudio in vitro.

H₀: El extracto de *Juglans regia*, No tiene efecto antimicrobiano comparado con Vancomicina sobre cepas de *Staphylococcus epidermidis*, estudio in vitro.

Tabla N°1: Efecto antimicrobiano del extracto en diferentes concentraciones y comparado con Vancomicina sobre cepas de *Staphylococcus epidermidis*, estudio in vitro.

Descriptivos								
	N	Media	Desv. Estándar	Desv. Error	95% del intervalo de confianza para la media		Mínimo	Máximo
					Límite inferior	Límite superior		
25%	20	5,30	2,364	,529	4,19	6,41	0	8
50%	20	7,40	1,273	,285	6,80	8,00	6	11
75%	20	10,75	1,293	,289	10,15	11,35	8	14
100%	20	15,75	1,517	,339	15,04	16,46	13	19
VAN	20	20,70	2,155	,482	19,69	21,71	17	24
Agua destilada	20	.00	.000	.000	.00	.000	0	0
Total	120	11,98	5,902	,590	10,81	13,15	0	24

Fuente: Reporte de resultados SPSS versión 25.

El **cuadro N°3** y la **tabla N°1** muestran que en los ensayos realizados en la investigación, se concluyó el efecto antimicrobiano sólo en concentraciones al 25%, 50%, 75% y 100% de extracto etanólico de *Juglans regia*.

Fórmula para el efecto inhibitorio

$$\% \text{ Efecto INH} == \frac{\text{media del diametro del halo INH del extracto} \times 100}{\text{media del diametro del halo INH del control positivo}}$$

Cuadro N°4: Porcentaje (INH) de las concentraciones del extracto etanólico de la *Juglans regia*.

Contenido del disco	<i>Juglans regia</i>			
	25% de concentración	50% de concentración	75% de concentración	100% de concentración
1	30	40	50	70
2	23.8	33.3	47.6	61.9
3	25	29.2	41.7	66.7
4	26.1	34.8	43.5	65.2
5	28.6	28.6	38.1	76.2
6	35.3	41.2	52.9	94.1
7	0	38.9	55.6	94.4
8	30	30	55	75
9	26.1	34.8	47.8	65.2
10	30	30	60	70
11	30	30	50	80
12	28.6	38.1	57.1	76.2
13	29.2	33.3	58.3	62.5
14	0	26.1	47.8	60.9
15	28.6	38.1	52.4	90.5
16	35.3	64.7	70.6	105.9
17	44.4	44.4	61.1	83.3
18	35	45	55	85
19	30.4	34.8	52.2	69.6
20	0	30	50.0	90

Tabla 2: Análisis de varianza para comparar el efecto antimicrobiano con Vancomicina sobre cepas de *Staphylococcus epidermidis*.

ANOVA

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	5539.676	5	1077,853	420,004	,000
Dentro de grupos	300,700	114	2,638		
Total	5839.67	119			

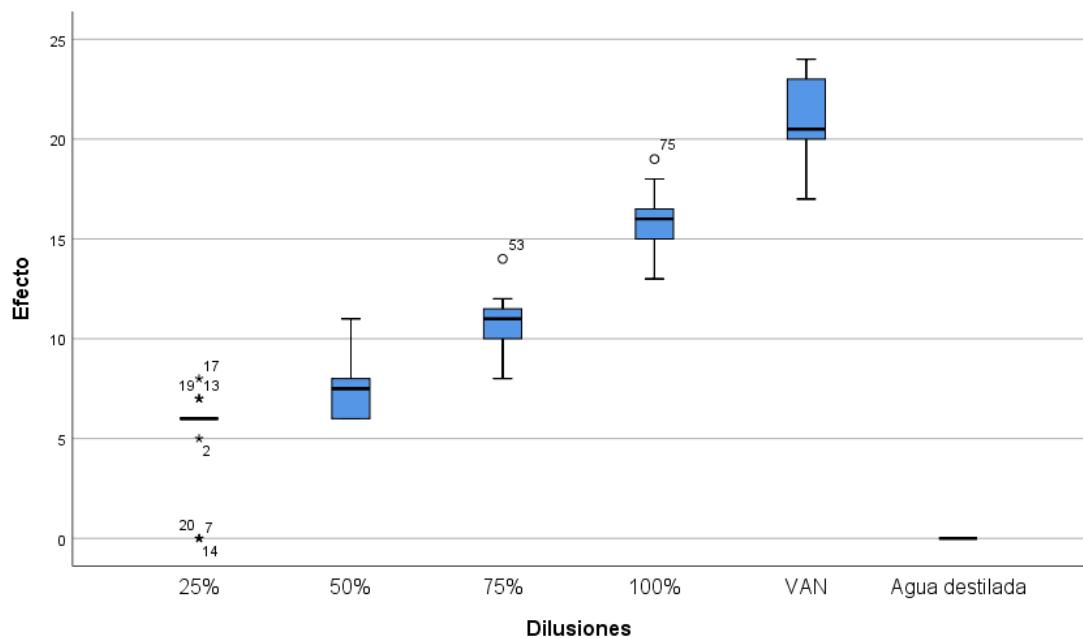
Fuente: Reporte de resultados SPSS versión 25.

Tabla 3: Pruebas Post-hoc Tukey para comparar el efecto antimicrobiano con Vancomicina sobre cepas de *Staphylococcus epidermidis*.

HSD Tukey

Diluciones	N	Subconjunto para alfa = 0.05					
		1	2	3	4	5	6
Agua destilada	20	0,00					
25%	20		5,30				
50%	20			7,40			
75%	20				10,75		
100%	20					15,75	
VAN	20						20,70
Sig.		1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000

Figura 1: Comparación entre grupos, efecto antimicrobiano con Vancomicina sobre cepas de *Staphylococcus epidermidis*.



V. DISCUSIÓN

Mediante esta investigación se consiguió que la dilución del extracto etanólico de *Juglans regia*, comparado con Vancomicina tenga un efecto antimicrobiano sobre las cepas de *Staphylococcus epidermidis*, estudio in vitro, donde se emplearon concentraciones diferentes al 25%, 50%, 75% y 100% por lo que se destinó un método adecuado al tratamiento con el Gold Estándar, donde se incluyó un control positivo: Vancomicina y uno negativo: agua destilada con el fin de especificar si las sustancias analizadas presentaban un rango de actividad antibacteriana.

La tabla 1: nos proporciona información descriptiva de las repeticiones de tratamientos de dilución del extracto etanolito de las hojas de *Juglans regia* (*nogal*), a los diferentes porcentajes, encontramos el promedio de cada caso, la desviación estándar es decir la variabilidad de los datos con respecto a su valor central. El error típico, así como los límites de confianza en cada caso. Se observó que las medias de las diferentes concentraciones han ido incrementando de acuerdo a la mayor concentración, así tenemos que al 50% el promedio es de 7.40; al de 75% el promedio es de 10.75 y al 100% es de 15.75%, siendo ésta el halo de inhibición mayor, con una desviación estándar de ± 1.517 y un intervalo de confianza (4.19 - 6.41) con un valor mínimo de 13 y un valor máximo de 19 mm. Así mismo también se encontró que con el tratamiento con Gold Estándar (Vancomicina) su halo de inhibición tiene un promedio de 20.70 mm. Una desviación estándar de ± 2.155 con intervalo de confianza al 95% de (19.69 – 21.71) siendo el valor mínimo de 17 y un máximo de 24mm.

Esta investigación experimental determinó que el extracto etanólico de las hojas de *Juglans regia* presentó sensibilidad antibacteriana comparado con Vancomicina sobre cepas de *Staphylococcus epidermidis*, y los resultados encajan con numerosos autores.^{4,5,6,7,8}

También se analizó que los halos más altos correspondían a la Vancomicina (control positivo) superando en un mínimo valor a lo manifestado por los estándares M100S26 del CLSI.22 en un halo de inhibición mayor de 17 mm

y menor de 16 mm y no se encontró una acción inhibitoria de con el agua destilada que se utilizó como control negativo de la investigación.

La tabla 2: reporta el valor del ratio F, la adición de los cuadrados entre grupos, es la suma de cuadrados del modelo, es decir que la diferencia de cada medida con respecto a la media total, los niveles de libertad sería la cifra de conjuntos de equiparación menos uno, por lo que al haber 5 grupos de comparación, la media cuadrática vendría ser la división de la adición de cuadrados por grados de libertad. La consecuente fila se tiene la adición de cuadrados adentro de los grupos, es decir que la adición de cuadrados de los residuos, el ratio F que se saca al dividir la media cuadrática entre grupos y la media cuadrática dentro de grupos y finalmente el valor de significancia que es ($P < 0.05$), esto nos da a indicar que refutamos la hipótesis nula y aprobamos la hipótesis alternativa, por lo que nos indica que existen diferencias significativas estadísticamente en la media de los cinco grupos, a lo que indica que el extracto etanolico de *Juglans regia*, tiene efecto antibacteriano sobre el *Staphylococcus epidermidis*.

La tabla 3: se observa los subconjuntos homogéneos, prueba de Tukey vemos cinco subconjuntos formados por las distintas disoluciones 25%, 50%, 75%, 100% y el de Vancomicina, siendo las medias de los halos de inhibición de manera ascendentes el más pequeño es el de 25% y el mayor halo es el de la Vancomicina. Para cuantificar las diferencias de los halos de inhibición que pueden deberse al porcentaje de las disoluciones analizamos los resultados de los intervalos de confianza que aparecen en la tabla de comparaciones múltiples (anexo). Observamos que el de menor halo de inhibición que es el 25% y el de mayor halo que es el de Vancomicina la diferencia mínima es de 13.84 mm hasta un máximo de 16.96 mm con una confianza del 95%.

VI. CONCLUSIONES

- Existe una diferencia altamente significativa al evaluar el extracto etanólico de *Juglans regia*, y el efecto antimicrobiano comparado con Vancomicina sobre cepas de *Staphylococcus epidermidis* ($F=248.578$; $P<0.01$).
- Se ha comprobado el efecto antimicrobiano del extracto etanólico de *Juglans regia*, sobre cepas de *Staphylococcus epidermidis* en las concentraciones al 25%, 50% al 75% y al 100%. Es decir, existe evidencia estadística suficiente para rechazar la hipótesis nula en todas las diluciones.
- Se ha comprobado el efecto antibacteriano de la Vancomicina sobre cepas de *Staphylococcus epidermidis*. Es decir, existe evidencia estadística altamente significativa suficiente para rechazar la hipótesis nula.

VII. RECOMENDACIONES

- Realizar nuevos estudios de la *Juglans regia* frente a otros microorganismos.
- Continuar los estudios de esta planta, pues por los compuestos que esta presenta se pueden determinar otras propiedades terapéuticas.
- Purificar los metabolitos secundarios presentes en las hojas de *Juglans regia*, con fin de determinar el verdadero responsable de la acción antimicrobiana.

VIII. REFERENCIA BIBLOGRAFICA

1. Wastrom T, Eliasson I, Holder I. Book the Pathogenesis of wound and biomaterial-associated infections. Editorial Springer. New Yord; 2013: 25-46.
2. García C. Resistencia antibiótica en el Perú y América Latina. Artículo de investigación de una Acta méd. peruana v.29 n.2 Lima abr/jun. 2012.
3. Ruiz J. Roque M. Actividad antimicrobiana de cuatro plantas del Nor-Oriente Peruano. Revista de Ciencia e Investigación 2009; 12(1): 41-47.
4. Farooqui A, Khan A, Borghetto LI, Kazmi S, Rubino S, Paglietti B. Synergistic Antimicrobial Activity of *Camellia sinensis* and *Juglans regia* against Multidrug-Resistant Bacteria. Research Article the PLoS ONE. February 26, 2015.
5. Zakavi F, Golpasand L, Daraeighadikolaei A, Farajzadeh A, Daraeighadikolaei A, Leilavi Z. Antibacterial Effect of *Juglans Regia* Bark against Oral Pathologic Bacteria. International Journal of Dentistry. Mayo 22, 2013.
6. Kale A, Pawar A, Deshpande N, Salvekar J. Antimicrobial Activity Study of *Juglans regia* L. Research Article the Journal of Pharmacy February 2011. Vol.4.Issue 2.
7. Noumi E, Snoussi M, Trabelsi N, Hajlaoui H, Ksouri R, Valentin E. Antibacterial, anticandidal and antioxidant activities of *Salvadora persica* and *Juglans regia* L. extracts. Research Article the Journal of Medicinal Plants. 9 September 2011. Vol. 5(17), pp. 4138-4146
8. Pereira J, Oliveira I, Sousa A, Valentao P, Andrade P, Ferreira I. Walnut (*Juglans regia* L.) leaves: Phenolic compounds, antibacterial activity and antioxidant potential of different cultivars. Research Article the Food and Chemical Toxicology 2007; 45: 2287–2295.
9. Romero R. Libro de Microbiología y Parasitología Humana. 3ª Edición. México: Editorial Medica Panamericana; 2007. Capítulo IV, *Estafilococos*. Pg. 399-401.
10. Murray P, Rosenthal K, Pfaller M. Libro de Microbiología Médica. 6ª Edición. España: ELSEVIER; 2009. Sección 5; *Staphylococcus* y cocos grampositivos relacionados. Pg. 209-223.

11. Kenneth R, George R. Sherris. Libro de Microbiología Médica. 5ª Edición. EE.UU: Mc Graw Hill; 2010. Parte III, capítulo 21; Bacterias Patógenas. Pg. 331-342.
12. Prats G. Libro de Microbiología y Parasitología Medica. 1ª Edición. España: Editorial Medica Panamericana; 2013. Parte II; Bacteriología. Pg. 146-150.
13. Fariña N, Carpinelli L, Samudio M, Guillén R, Laspina F, Sanabria R. *Staphylococcus* coagulasa-negativa clínicamente significativos. Especies más frecuentes y factores de virulencia. Revista Chilena de Infectología. 2013; 30 (5): 480-488.
14. Rodríguez L, Castellanos J, Gálvez J. *Staphylococcus epidermidis* resistente a linezolid en paciente portador de prótesis de rodilla. Revista Española de Cirugía Ortopédica y Traumatología. 2012; 56(1):51-53.
15. Ortega S, Cendejas R. Importancia médica del biofilm de *Staphylococcus epidermidis* en las infecciones de prótesis articular. Artículo de Investigación de discapacidad. Volumen 3, Número 3 Julio – Septiembre. 2014. pp 106-113.
16. O'gara J, Humphreys H. *Staphylococcus epidermidis* biofilms: importance and implications. Research Article the Journal of Medical Microbiology. 2001; Volume 50. 582-587.
17. Agafito T, Sung I. Libro de Fitomedicina de 1100 Plantas Medicinales. 1ª Edición. Perú: Isabel I.R.L; 2000. Tomo I; Nogal. Pg. 343-344.
18. Master S, Trevor A. Libro de Farmacología básica y clínica. 11ª Edición. EE.UU: Mc Graw Hill; 2013. Sección VIII, capítulo 43; Lactámicos B y otros antibióticos activos en la pared y la membrana celular, Antibióticos Glucopéptidicos. Pg. 786-787.
19. Clinical and Laboratory Standards Instituted. (Consultado: 23 de Junio 2017). Disponible en: <file:///C:/Users/JDPM/Downloads/LISTA%20CLSI-2016.pdf>.
20. Estudio comparativo de dos métodos de extracción para el aceite esencial presente en la cascara de Pomelo (*Citrus máxima*). (Consultado: 07 de Julio de 2017). Disponible en:

<http://190.242.62.234:8080/jspui/bitstream/11227/108/1/Proyecto%20final%20de%20grado%2014-11-2012.pdf>

21. Procedimiento en Microbiología Clínica. (Consultado: 01 de Julio de 2017). Disponible en: <https://www.seimc.org/contenidos/documentoscientificos/procedimientosmicrobiologia/seimc-procedimientomicrobiologia11.pdf>
22. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing. (Consultado: 01 de Julio de 2017). Disponible en: <file:///C:/Users/JDPM/Downloads/Performance%20Standards%20for%20Antimicrobial.pdf>
23. Tukey J. Comparando medios individuales en el análisis de varianza. Biometría. 3 edición. USA. Editorial Elsevier; 1998.
24. Díaz A. Diseño estadístico de experimentos. 2 edición. Colombia: Editorial: Universidad de Antioquia; 2009. p. 321 – 325.
25. Organización Mundial de la Salud. Manual de Bioseguridad en el Laboratorio [en línea]. 3 edición. Atlanta; 2005. (Citado 15 Julio de 2017) Disponible en: http://www.who.int/topics/medical_waste/manual_bioseguiridad_laboratorio.pdf

ANEXO N° 01

Cuando la varianza es conocida: muestra preliminar para cada grupo

Dónde:

- n = número de elementos para cada grupo.
- $Z_{\alpha/2}$ = valor de la distancia normal estandarizada para el nivel de significancia α .
- Z_{β} = valor de la distribución normal estandarizada para β .
- \bar{X}_1 = promedio de la característica de estudio en grupo I
- \bar{X}_2 = promedio de la característica de estudio en grupo II

Esta fórmula se emplea cuando la hipótesis alterna es de dos colas, para una cola no se multiplica por 2

- σ = muestras independientes.

$$n = \frac{(Z_{\alpha/2} + Z_{\beta})^2 2\sigma^2}{(\bar{X}_1 - \bar{X}_2)^2}$$

ANEXO N° 02

FICHA DE REGISTRO DE DATOS DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE *Juglans regia*

A. INTRODUCCIÓN

La siguiente herramienta es un formato para recolectar datos que luego nos servirán en la medición del efecto antibacteriano del extracto etanólico de *Juglans regia* en diferentes concentraciones, sobre el *Staphylococcus epidermidis*.

B. INSTRUCCIONES:

- Registrar las medidas según su concentración.
- Registrar la medida del halo inhibitorio en milímetros (mm) de cada disco presente en la placa Petri.

C. CONTENIDO:

CONTENIDO DEL DISCO		<i>Juglans regia</i>				Vancomicina
		25%	50%	75%	100%	
DIAMETRO DE LOS HALOS DE INHIBICION (mm)	1					
	2					
	3					
	4					
	5					
	6					
	7					
	8					
	9					
	10					
	11					
	12					
	13					
	14					
	15					
	16					
	17					
	18					
	19					
	20					

D. VALORACION:

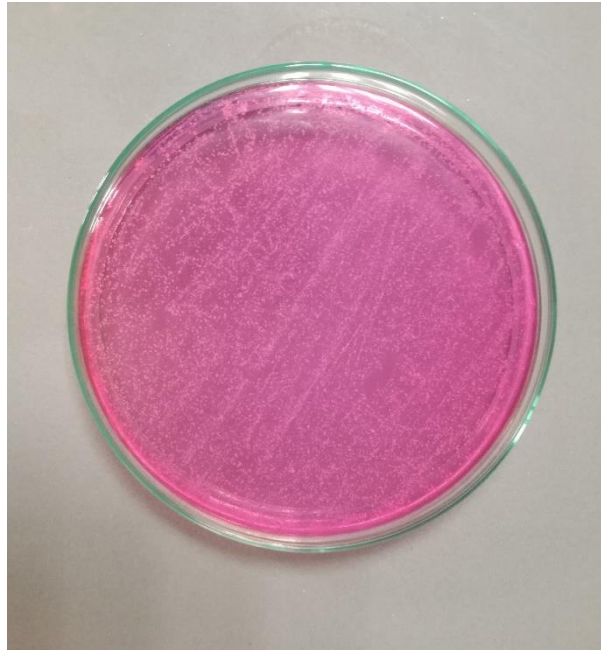
1. Si no hay halos (No Tiene Efecto Antimicrobiano)
2. Si hay halos (Tiene Efecto Antimicrobiano), entonces:

$$\% \text{ Efecto INH} = \frac{\text{media del diametro del halo INH del extracto} \times 100}{\text{media del diametro del halo INH del control positivo}}$$

ANEXO N° 03

FOTOS DEL PROCESO DE LA INVESTIGACION

CEPAS *Staphylococcus epidermidis*.



ELABORACION DEL EXTRACTO ETANÓLICO



Selección de las hojas de la planta



Limpieza de las hojas



Secado en el microondas



Trituración de hojas



Peso de 50 gr de hojas trituradas

Maceración con Etanol



Filtrado del Extracto Etanólico

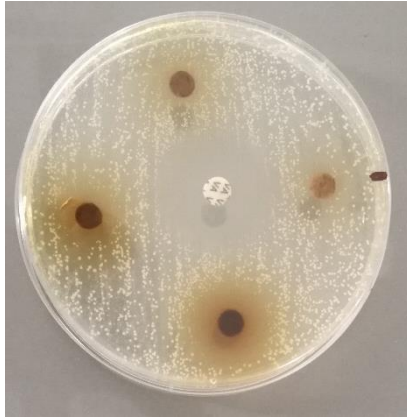


ESPECIFICACION DE LA SENSIBILIDAD ANTIBACTERIANA

Método de difusión en Agar



Medida de los halos de inhibición del extracto etanólico de *Juglans regia*



perez

INFORME DE ORIGINALIDAD

29%	17%	3%	22%
INDICE DE SIMILITUD	FUENTES DE INTERNET	PUBLICACIONES	TRABAJOS DEL ESTUDIANTE

FUENTES PRIMARIAS

1	Submitted to Universidad Cesar Vallejo Trabajo del estudiante	18%
2	repositorio.unapiquitos.edu.pe Fuente de Internet	5%
3	casaoriginal.com Fuente de Internet	1%
4	Submitted to Royal Melbourne Institute of Technology Trabajo del estudiante	<1%
5	produccioncientificaluz.org Fuente de Internet	<1%
6	www.iiste.org Fuente de Internet	<1%
7	dspace.unitru.edu.pe Fuente de Internet	<1%
8	www.revistaindustriatextila.ro Fuente de Internet	<1%



UCV UNIVERSIDAD CESAR VALLEJO - PIURA
Dr. EDGAR BAZAN PALOMINO
Coordinador de la Escuela de Medicina
UCV - Piura

 UCV UNIVERSIDAD CÉSAR VALLEJO	ACTA DE ORIGINALIDAD	Código : F07-PP-PR-02.02 Versión : 09 Fecha : 23-03-2018 Página : 1 de 1
--	-----------------------------	---

Yo,

EDGAR RICARDO BAZAN PALOMINO docente de la Facultad De Ciencias Médicas y Escuela Profesional de Medicina de la Universidad César Vallejo- Piura (precisar filial o sede), revisor (a) de la tesis titulada

“EFECTO ANTIMICROBIANO DEL EXTRACTO ETANOLICO DE JUGLANS REGIA, COMPARADO CON VANCOMICINA SOBRE CEPAS DE STAPHYLOCOCCUS EPIDERMIDIS, ESTUDIO IN VITRO” del (de la) estudiante **Pérez Mendoza Juan Diego** constato que la investigación tiene un índice de similitud de 29 % verificable en el reporte de originalidad del programa Turnitin.

El/la suscrito (a) analizó dicho reporte y concluyó que cada una de las coincidencias detectadas no constituyen plagio. A mi leal saber y entender la tesis cumple con todas las normas para el uso de citas y referencias establecidas por la Universidad César Vallejo.

Piura, 01 de febrero de 2019



Firma

Edgar Ricardo Bazán Palomino

DNI N° 18890663

Elaboró	Dirección de Investigación	Revisó	Responsable del SGC	Aprobó	Vicerrectorado de Investigación
---------	----------------------------	--------	---------------------	--------	---------------------------------



UNIVERSIDAD CÉSAR VALLEJO

Centro de Recursos para el Aprendizaje y la Investigación (CRAI)
"César Acuña Peralta"

FORMULARIO DE AUTORIZACIÓN PARA LA PUBLICACIÓN ELECTRÓNICA DE LAS TESIS

1. DATOS PERSONALES

Apellidos y Nombres: Perez Mendoza Juan Diego
D.N.I. : 47521806
Domicilio : Av. Ricardo Palma, A.H Pilar Nores Mz: D, Lt:06
Teléfono : Fijo: (073) 527128 Móvil: 992990319
E-mail : pm.jdiego@gmail.com

2. IDENTIFICACIÓN DE LA TESIS

Modalidad:

☐ Tesis de Pregrado

Facultad : Ciencias Medicas
Escuela : Medicina
Carrera : Medicina
Título : EFECTO ANTIMICROBIANO DEL EXTRACTO
ETANOLICO DE *Juglans regia*, COMPARADO CON VANCOMICINA
SOBRE CEPAS DE *Staphylococcus epidermidis*, ESTUDIO IN VITRO.

☐ Tesis de Post Grado

☐ Maestría

☐ Doctorado

Grado :
Mención :

3. DATOS DE LA TESIS

Autor (es) Apellidos y Nombres:
Perez Mendoza Juan Diego

Título de la tesis:

EFECTO ANTIMICROBIANO DEL EXTRACTO ETANOLICO DE *Juglans regia*, COMPARADO CON VANCOMICINA SOBRE CEPAS DE *Staphylococcus epidermidis*, ESTUDIO IN VITRO.

Año de publicación : 2019

4. AUTORIZACIÓN DE PUBLICACIÓN DE LA TESIS EN VERSIÓN ELECTRÓNICA:

A través del presente documento,

Si autorizo a publicar en texto completo mi tesis.


No autorizo a publicar en texto completo mi tesis.



Firma :

Fecha :

31/01/19

 UCV UNIVERSIDAD CÉSAR VALLEJO	AUTORIZACIÓN DE PUBLICACIÓN DE TESIS EN REPOSITORIO INSTITUCIONAL UCV	Código : F08-PP-PR-02.02 Versión : 07 Fecha : 31-03-2017 Página : 1 de 1
--	--	---

JUAN DIEGO PEREZ MENDOZA identificado con DNI N° 47521806, egresado de la Escuela Profesional de Medicina de la Universidad César Vallejo, autorizo (X), No autorizo () la divulgación y comunicación pública de mi trabajo de investigación titulado **EFFECTO ANTIMICROBIANO DEL EXTRACTO ETANOLICO DE JUGLANS REGIA, COMPARADO CON VANCOMICINA SOBRE CEPAS DE STAPHYLOCOCCUS EPIDERMIDIS, ESTUDIO IN VITRO**; en el Repositorio Institucional de la UCV (<http://repositorio.ucv.edu.pe/>), según lo estipulado en el Decreto Legislativo 822, Ley sobre Derecho de Autor, Art. 23 y Art. 33

Fundamentación en caso de no autorización:

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....


 FIRMA

DNI: 47521806

FECHA: 05 de Febrero del 2019

Elaboró	Dirección de Investigación	Revisó	Representante de la Dirección / Vicerrectorado de Investigación y Calidad	Aprobó	Rectorado
---------	----------------------------	--------	---	--------	-----------



UNIVERSIDAD CÉSAR VALLEJO

AUTORIZACIÓN DE LA VERSIÓN FINAL DEL TRABAJO DE INVESTIGACIÓN

CONSTE POR EL PRESENTE EL VISTO BUENO QUE OTORGA EL ENCARGADO DE INVESTIGACIÓN DE

ESCUELA ACADEMICO PROFESIONAL DE MEDICINA

A LA VERSIÓN FINAL DEL TRABAJO DE INVESTIGACIÓN QUE PRESENTA:

PEREZ MENDOZA JUAN DIEGO

INFORME TITULADO:

EFFECTO ANTIMICROBIANO DEL EXTRACTO ETANOLICO DE JUGLANS REGIA, COMPARADO CON VANCOMICINA SOBRE CEPAS DE STAPHYLOCOCCUS EPIDERMIDIS, ESTUDIO IN VITRO

PARA OBTENER EL GRADO O TÍTULO DE:

MEDICO CIRUJANO

SUSTENTADO EN FECHA: 02/02/2019

NOTA O MENCIÓN: CATORCE (14)



UCV UNIVERSIDAD CÉSAR VALLEJO - PUNTA
Dr. EDGAR BAZÁN PALOMINO
Coordinador de la Escuela de Medicina
UCV - Pura

FIRMA DEL ENCARGADO DE INVESTIGACIÓN